Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Biologia Geral
Programa de Pós-Graduação em Genética

Dissertação de Mestrado

Estudos Evolutivos No Gênero Pantropical *Cissus* L. (Vitaceae) Com Ênfase Nas Espécies Neotropicais

Autora: Jacqueline Gomes Rodrigues

Orientadora: Prof. Dr ^a. Maria Bernadete Lovato Coorientador: Prof. Dr. Julio Antonio Lombardi

Belo Horizonte, 2012 Jacqueline Gomes Rodrigues

Estudos Evolutivos Em Espécies Do Gênero Pantropical Cissus (Vitaceae) Com Ênfase Nas Espécies Neotropicais.

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Genética do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Genética

Orientadora: Prof. Dr a. Maria Bernadete Lovato

Universidade Federal de Minas Gerais

Co-orientador: Prof. Dr. Julio Antonio Lombardi Universidade Estadual Paulista

Belo Horizonte

2012

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha orientadora Bernadete, primeiramente pela amizade adquirida desde que entrei para o Genepop em 2008, pelo incentivo e confiança depositada em mim.

Ao meu co-orientador Julio, pela imensa ajuda, ensinamentos, pelo material biológico fornecido e seu grande conhecimento taxonômico do grupo;

A todos os amigos que já passaram pelo laboratório Genepop: Renan, Helena, Luciana, Mariana, Fernanda, Priciane, Renata Santiago, Rosangela, Renata Acácio, Junia, Bruno, Michele, Larissa, Natália, Ludmila, Daniel e Matheus. Sempre companheiros na execução dos projetos e que se tornam grandes amigos.

Aos amigos do LDGH: prof. Eduardo Tarazona, Moara, Fernanda, Marília, Lu Werneck, Giordano, Donnys, Mateus, FerDi e tantos outros. Pela boa vizinhança, pela divertida convivência no laboratório, por tantos favores, conselhos e incentivo.

A todos do LBEM, principalmente o Anderson e Augusto pelos conselhos, discussões e críticas ao longo do trabalho.

Ao NAGE pela infra-estrutura oferecida ao sequenciamento de DNA e principalmente ao Juliano pela boa vontade em ajudar e amizade

Aos meus amados pais Josué e Leosmar e minha irmã Josiane, por garantirem todas as condições para que eu estudasse, por me incentivarem nesse caminho sempre, pela paciência e toda torcida sincera para o meu sucesso.

Ao Alexandre Salino, curador do BHCB, por me deixar pegar material do herbário.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

Obrigado a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Sumário

ISTA DE FIGURAS	٠١
ISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	1
ABSTRACT	2
NTRODUÇÃO	3
1) A família Vitaceae	3
2) Filogenia na família Vitaceae	
3) O gênero Cissus	е
4) Objetivos	11
4.1. Gerais	11
4.2. Específicos	11
Artigo	12
Abstract	13
1. Introduction	14
2. Materials and Methods	16
2.1. Taxon sampling	16
2.2. DNA extraction, PCR and sequencing	16
2.3. Phylogenetics analyses	17
2.4. Estimation of divergence times	18
2.5. Ancestral state caracter reconstrution	19
2.6. Biogeographycal analysis	19
3. Results	20
4. Discussion	22
Cissus striata clade:	22
Cissus trianae clade	23
The core Cissus clade	24
Biogeography implications	26
5. Literature cited	29
Appendix	45
Supplementary Information	47
CONCLUSÕES	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Algumas espécies de <i>Cissus</i> . (A) <i>Cissus campetris</i> (grupo XV), (B) <i>Cissus decidua</i> (grupo IX), (C) <i>Cissus erosa</i> (grupo V), (D) <i>Cissus tinctoria</i> (grupo XI). (cortesia de Júlio
Antônio Lombardi)
Figura 2. Algumas espécies de Cissus. (A) <i>Cissus verticillata</i> (grupo XV), (B) <i>Cissus simsiana</i> (grupo X), (C) <i>Cissus stipulata</i> (grupo XIV), (D) <i>Cissus striata</i> (grupo X). (cortesia de Júlio Antônio Lombardi)
Figura 3. Algumas espécies de <i>Cissus</i> . (A) <i>Cissus gongylodes</i> (grupo VII), (B) <i>Cissus spinosa</i> (grupo V), (C) <i>Cissus paraensis</i> (grupo XIV), (D) <i>Cissus verticillata</i> (grupo XV). (cortesia de Júlio Antônio Lombardi)
Figure 1 (Artigo): Bayesian consensus tree for the <i>trnL-F</i> sequences. Posterior probabilities values are below the branches and the bootstrap values from the corresponding maximum parsimony analysis and maximum likelihood analyses are above the branches, respectively (Asterisk indicates that the analysis was not supported, < 50%). Samples from the New World are shown in boldface.
Figure 2 (Artigo). Phylogenetic trees resulting from a Bayesian analysis of combined sequence data (<i>trnL-F</i> , <i>rps16</i> and ITS) focusing on the America <i>Cissus</i> . Values below the branches represent Bayesian posterior probabilities and above the parsimony bootstrap and bootstrap from maximum likelihood, respectively (Asterisk indicates that the analysis was not supported, <50%). Samples from the New World are shown in boldface
Figure 3 (Artigo) Chronogram resulting from the Beast analyze of combined sequence data (trnL-F, rps16 and ITS). The bars represent the 95% high posterior density credibility interval for node ages and the numbers above the branches are the posterior probability. Samples from the New World are shown in boldface. Calibration points are indicated with the letters A and B.
Figure 4 (Artigo). Reconstruction of leaf type parsimoniously optimized in a Bayesian

Figure 5 (Artigo). Graphical results of Bayesian Binary MCMC analysis (BBM) reconstruction
of ancestral distribution areas using RASP. Pie charts at internal nodes represent the
probabilities for each ancestral area. Bayesian posterior probability is indicated at the nodes.
Geographical regions are indicated for by (A) America, (B) Africa, (C) Asia, (D) Australia 43
Figure 6 (Artigo). Graphical results of S-DIVA reconstruction of ancestral distribution areas
using RASP. Pie charts at internal nodes represent the probabilities for each ancestral area.
Bayesian posterior probability is indicated at the nodes. Geographical regions are indicated
by (A) America, (B) Africa, (C) Asia, (D) Australia
Figure S1 (Artigo, Supplementary information): Phylogenetic tree resulting from Bayesian
analysis of trnL-F sequence data. Values below the branches represent Bayesian posterior
probabilities and above the parsimony bootstrap and bootstrap from maximum likelihood
respectively (Asterisk indicates that the analysis was not supported)
Figure S2 (Artigo, Supplementary information): Phylogenetic tree resulting from Bayesian
analysis of <i>rps16</i> sequence data. Values below the branches represent Bayesian posterior
probabilities and above the parsimony bootstrap and bootstrap from maximum likelihood
respectively (Asterisk indicates that the analysis was not supported)
Figure S3 (Artigo, Supplementary information): Phylogenetic tree resulting from Bayesian
analysis of entire ITS sequence data. Values below the branches represent Bayesian
posterior probabilities and above the parsimony bootstrap and bootstrap from maximum
likelihood respectively (Asterisk indicates that the analysis was not supported)
Figure S4 (Artigo, Supplementary information): Phylogenetic tree resulting from maximum
parsimony analysis of ITS1 sequence data. Values above the branches represent the
parsimony bootstrap. 50

LISTA DE TABELAS

Tablela	1.	Accessions	with	corresponding	voucher	information	and	GenBank	reference
numbers	s se	equenced in t	his st	udy					38

RESUMO

Cissus L. é o maior gênero da família Vitaceae, composto por cerca de 300 espécies. É um grupo heterogêneo morfologicamente e apresenta vasta distribuição na região pantropical, com centros de diversidade na América do Sul e África tropical. Estudos moleculares prévios foram conduzidos na família Vitaceae, porém muitas incertezas permanecem no grupo, principalmente na taxonomia infragenérica de Cissus que, com poucas espécies amostradas, demonstrou-se se tratar de um grupo polifilético. O objetivo do presente estudo foi inferir uma filogenia e biogeografia para espécies do gênero Cissus e fornecer subsídio para a posição das espécies do Novo Mundo no contexto da filogenia do gênero. As análises filogenéticas e o tempo de divergência foram determinados baseandose nas seguências de três regiões não codificantes de DNA de cloroplasto (intron do trnL, região intergenica trnL-F e o intron rps16) e da região nuclear do espaçador ribossomal interno (ITS). As sequências do intron do trnL e trnL-F obtidas neste trabalho foram combinados com prévios dados publicados para família e também foram utilizadas para reconstrução de área ancestral. Todas as análises demonstraram que as espécies de Cissus não formam um grupo monofiletico, corroborando os estudos moleculares realizados na família. As espécies da América do Sul Cissus striata, C. simsiana e C. tweedieana são consistentemente agrupadas com o gênero australiano Clematicissus. A espécie C. trianae, endêmica da America do Sul, forma um grupo monofiletico com as quatro espécies australianas C. antarctica, C. hypoglauca, C. oblonga e C. sterculiifolia. Não sendo possível através de nossas analises, verificar a relação deste grupo com as outras espécies de Cissus. As demais espécies do gênero formam um grupo monofilético no qual as espécies do Novo Mundo formam uma única linhagem. O grupo monofilético de Cissus provavelmente teve origem na Ásia durante o Eoceno e pode ter derivado de um elemento da flora boreotropical. A relação geográfica das espécies do Velho Mundo é complexa com várias disjunções que pode ser um resultado da migração pela Laurasia. Os agrupamentos encontrados em nossas analises reúnem diversos grupos morfológicos propostos para as espécies da America do Sul. A morfologia foliar apresenta sinal filogenético e pode ser utilizado como um carácter para classificação infragenérica. O gênero precisa de mais estudos objetivando eliminar a polifilia aparente.

ABSTRACT

Cissus L. is the largest genus of Vitaceae (the grape family) with about 350 species widely distributed in the tropical region. The genus Cissus displays extraordinary morphological diversity and complex geographical distribution with highest diversity is in South America and Africa. Previous molecular studies were conducted in the family Vitaceae, but many uncertainties remain in the group, mostly in infrageneric taxonomy of Cissus, with few species sampled, it was shown it is a polyphyletic group. The aim of this study, therefore, is to infer a phylogeny and biogeography for species of Cissus with focus in the new world species. The phylogenetic and divergence time were determined based on data from three non-coding regions of chloroplast DNA (trnL intron, trnL-F intergenic region and the rps16 intron) and data from nuclear markers (ITS). The data of the marker trnL-F were combined with previous data published for family and were used for reconstruction area ancestor. All analyses showed that Cissus species do not form a monophyletic group, according the other molecular studies in the family. The species of South America Cissus striata, C. simsiana and C. tweediana are consistently grouped with the genus Australian Clematicissus. The four Australian species C. antarctica, C. hypoglauca, C. oblonga and C. sterculiifolia form a monophyletic group with the species C. trianae endemic to South America. Through our analysis, we could not verify the relationship of this group with other species of Cissus. The other species of the genus form a monophyletic group which species of the new world form a single lineage. The monophyletic group of Cissus probably originated in Asia during the Eocene and could be an element of the forest boreotropical. The geographical relationship with the species of the Old World is complex with many disjunctions which may be a result of Laurasia migration. The clusters found in our molecular analysis combines several morphological groups proposed for South America species. The leaf morphology provides phylogenetic signal and can be used as a character for infrageneric classification. The genus needs more studies aiming to eliminate the group polyphyly.

INTRODUÇÃO

1) A família Vitaceae

A família Vitaceae apresenta ca. 14 gêneros e 900 espécies, primariamente lianas distribuídas na região tropical da Ásia, África, Austrália, América e ilhas do oceano Pacífico (Soejima and Wen 2006). Os representantes mais reconhecidos da família e que possuem maior importância econômica são as uvas (várias espécies do gênero *Vitis*, especialmente *V. vinifera* L.), extensivamente cultivadas no mundo para a produção da fruta e do vinho. Algumas espécies da família também são muito cultivadas para a ornamentação (por exemplo, *Parthenocissus quinquefolia* L.).

A posição filogenética de Vitaceae dentro das Eudicotiledoneas não é precisa (Judd and Olmstead, 2004; APGII, 2003). Entretanto, Jansen *et al.*, (2006), em um estudo filogenético utilizando a sequência de DNA de todo o cloroplasto, demonstrou que Vitaceae é um dos primeiros clados das Rosídeas a divergir.

A família Vitaceae pode ser facilmente reconhecida pela presença de gavinhas opostas às folhas e pela morfologia da semente, geralmente com um par de invaginações ventrais e uma chalaza dorsal (Chen and Manchester, 2007; Wen et al., 2007). As flores pequenas e irregulares são bisexuais na maioria dos gêneros, enquanto a forma das folhas pode ser variável dentro de um mesmo indivíduo (Rossetto et al., 2001). As relações filogenéticas dentro da família não foram completamente resolvidas, principalmente devido às dificuldades morfológicas encontradas na delimitação dos gêneros dentro do grupo (Lombardi, 2007).

Esta dificuldade é refletida na história taxonômica da família Vitaceae, que começou com a descrição de Linnaeus das espécies *Cissus vitiginea* e *Vitis vinifera* em 1753. A difícil delimitação dos gêneros na família baseada na morfologia levou a uma serie de circunscrições não acuradas dos gêneros, em especial de *Cissus*. Todos os gêneros de Vitaceae foram reunidos no gênero *Vitis* em 1818 por R. Brown, o que foi posteriormente criticado por Planchon (1884). Planchon descreveu 10 gêneros para a família (como Ampelidae) e aplicou classificações infragenéricas a *Vitis*, *Ampelocissus* e *Cissus* (Soejima, *et al.*, 2006). Para o gênero *Cissus* descreveu as seguintes divisões: *Eucissus*, *Cayratia* e *Cyphostemma*. As seções *Cayratia* e *Cyphostemma* ganharam posteriormente o status de gênero, por Gagnepain em 1910, e por Alston em 1931, respectivamente (Lombardi, 2000). *Cyphostemma* foi incluído novamente no gênero *Cissus* por Suessenguth, 1953, e posteriormente segregado por Descoings em 1960.

Atualmente Ampelopsis Michx contém aproximadamente 25 espécies com uma distribuição disjunta na Ásia, America do Norte Europa (Chen and Manchester 2007). Vitis L. apresenta aproximadamente 70 espécies que se distribuem na região temperada do hemisfério norte, especialmente na America do Norte (Tröndle et al., 2010). Parthenocissus Planch possui cerca de 15 espécies das quais aproximadamente nove possuem ocorrência na Ásia e três na America do Norte (Nie et al., 2010). Recentemente o gênero Yua C.L.Li foi segregado de Parthenocissus e apresenta cerca de 3 espécies com distribuição no sul da China, Vietnã, Nepal e Índia (Nie et al., 2010). Cayratia Juss (com cerca de 50 espécies) e Tetrastigma (com cerca de 90 espécies) ocorrem principalmente no sul da Ásia e Malásia. Ampelocissus Planch. apresenta cerca de 90 espécies que ocorrem tanto na Ásia e Malásia quanto na África e América Central. Cyphostemma (Planch.) Alton com cerca de 200 espécies e Rhoicissus Planch. com cerca de 12 espécies são gêneros que apresentam a maioria de suas espécies no continente Africano. Os gêneros Nothocissus (Planch.) Latiff, que possui 6 espécies e o gênero Pterisanthes Bl. que apresenta 20 espécies são ambos endêmicos da Malásia. O gênero Acareosperma Gagnep apresenta uma única rara espécie que é restrita à região dos Laos (Chen e Manchester 2007). O gênero Clematicissus Planch é endêmico da Austrália, se tratava de um gênero monoespecífico que recentemente recebeu mais uma espécie segregada do gênero Cissus (Jackes e Rossetto 2006). Cissus é o maior gênero da família Vitaceae com cerca de 350 espécies com distribuição pantropical (Lombardi 2000).

2) Filogenia na família Vitaceae

Devido à aparente dificuldade em esclarecer as relações filogenéticas na família Vitaceae pelos métodos tradicionais com base em caracteres morfológicos, os dados moleculares foram utilizados para auxiliar na taxonomia, e também permitiram questionar as abordagens filogenéticas propostas anteriormente (Ingrouille et al., 2002; Rossetto et al., 2002, 2007; Soejima and Wen, 2006; Wen et al., 2007). Ingrouille et al., (2002) utilizando o gene de cloroplasto *rbc*L analisou 11 gêneros da família Vitaceae, incluíndo Leeaceae. Eles mostraram que *Leea* forma um grupo irmão ao restante das Vitaceae. *Ampelopsis* apareceu como um grupo basal enquanto que *Cissus, Ampelocissus e Clematicissus* formaram um grupo intermediário e *Vitis* o grupo mais derivado. *Cayratia* e *Tetrastigma* formaram um grupo irmão.

Rossetto *et al.*, (2001) realizaram um estudo filogenético utilizando o intron *trnL* com o objetivo de acessar a relação filogenética entre *Vitis vinifera* e os outros taxas que ocorrem na região da Austrália. Eles identificaram que as espécies *Cissus hypoglauca* A.Gray e

Cissus sterculiifolia (F.Muell. ex Benth.) estavam filogeneticamente relacionadas à Vitis vinifera, porém com baixo suporte. Rossetto et al., (2002) utilizaram o intron trnL e o marcador nuclear (ITS1) e mostraram que quatro espécies de Cissus que ocorrem na Austrália (Cissus antarctica Vent, C. hypoglauca, Cissus oblonga (Benth.) Planch., e C. sterculiifolia) formavam um grupo irmão a Vitis rotundifolia Michx.

Apesar do suporte desta relação ser baixo, os autores sugeriram a possibilidade de transferência das quatro espécies de *Cissus* para um novo gênero a ser criado. Esta solução seria mais coerente, segundo os autores, já que *C. antarctica* apresentava um desenvolvimento floral intermediário entre *Vitis* e *Ampelopsis*. Entretanto, estudo feito por Rossetto *et al.*, (2007) não reproduziu esta relação de *Vitis* com as quatro espécies de *Cissus* e estudo de comparação ontogenética entre *C. antarctica* e *V. rotundifolia* não suportou a relação entre estes taxa (Timmons *et al.*, 2007).

Outro resultado interessante das análises filogenéticas de Rossetto *et al.*, (2002) é a proximidade filogenética encontrada entre a espécie *Cissus opaca* F.Muell. e o gênero até então monoespecíifco *Clematicissus*. Baseado neste resultado, mais tarde, Jackes e Rossetto (2006) transferiram *C. opaca* para o gênero *Clematicissus*. Rossetto *et al.*, (2007) sugeriram que *Cissus tweedieana* (Baker) Planch e *Cissus striata* Ruiz e Pav., espécies endêmicas da América do Sul, também são relacionadas com *Clematicissus*.

A análise filogenética de Soejima and Wen (2006) envolvendo 12 gêneros de Vitaceae, utilizando regiões de cloroplasto (região do *trnL-F*, espaçador *atpB-rbcL* e o intron *rps16*), mostrou a divisão da família em três clados: (1) o grupo formado por *Ampelopsis-Rhoicissus-Parthenocissus-Vitis-Nothocissus-Pterisanthes-Ampelocissus*; (2) um clado formado por espécies do gênero *Cissus*, exceto a espécie da America do Sul *C. striata*, e (3) um clado composto por *Cayratia-Tetrastigma-Cyphostemma*.

Wen et al. (2007), baseando-se no gene nuclear GAI1 recuperaram os clados reconhecidos com o estudo anterior com marcadores plastidiais (Soejima and Wen, 2006) com maior suporte para ramos. O artigo mais recente, diferentemente da filogenia conduzida com marcadores de cloroplasto, sugeriu que o grupo Ampelopsis está mais proximamente relacionado às espécies do gênero Parthenocissus que às do gênero Vitis, porém com baixo suporte dos ramos. Além disso, Wen et al. (2007) sugeriram que as espécies da América do sul, Cissus striata e Cissus simsiana Schult.& Schult.f., estão mais relacionadas a espécies dos gêneros Rhoicissus e Ampelopsis que a espécies de Cissus que foram amostradas da Ásia, África e América Central e do Sul, as quais, por sua vez, se mostraram monofiléticas. Recentemente Nie et al. (2012) sugeriram que as espécies C. striata, C. tweediana e C. simsiana constituem grupo irmão àquele formado pelas espécies de Clematicissus e estas formam um clado irmão às espécies de Rhoicissus. Ambos os grupos

estão inseridos em meio às espécies de *Ampelopsis*, tornando-se assim este um grupo parafilético.

3) O gênero Cissus

Cissus é o maior gênero da família Vitaceae, com cerca de 350 espécies descritas. Sua distribuição geográfica inclui a África, Américas, sul da Ásia, Austrália, e Nova Guiné (Lombardi 2000). O gênero é bastante heterogêneo, porém a maioria das espécies são lianas, apresentam flores predominantemente tetrâmeras, disco nectarífero adnato à parede do ovário e inflorescências desprovidas de ramos revolutos (Lombardi 1994). As figuras 1-3 mostram a morfologia de algumas espécies do gênero.

O centro de diversidade de espécies do gênero se encontra na América do Sul e África tropical (Chen and Manchester 2007). São reconhecidas cerca de 64 espécies de *Cissus* para a América do Sul, sendo 48 espécies endêmicas (Lombardi, 2002, 2004, 2007). É o único gênero da família representado naturalmente na região, exceto por *Vitis tiliifolia* Humb. and Bonpl. *ex* Roem. and Schult., ocorrente no noroeste da América do Sul (Lombardi, 2007).

As espécies de *Cissus* ocorrem em diversas altitudes (do nível do mar à cerca de 3050m) e em diversas formações vegetacionais, como matas primárias, secundárias, capoeiras e savanas (Lombardi, 2000). A costa atlântica do Brasil é o centro de diversidade para as espécies de *Cissus* com folhas compostas pinadas, com cinco espécies ocorrendo nesta região das oito descritas (Lombardi, 2002).

Apesar do gênero não ter atualmente uma significativa importância econômica, algumas espécies são muito utilizadas na medicina popular. Como uma planta potencialmente medicinal, *Cissus verticillata* (L.) Nicolson and C.E.Jarvis vem sendo estudada por diversos autores (Lans, 2006, Barbosa *et al.*, 2002, Lino *et al.*, 2008). A espécie é conhecida popularmente como insulina vegetal, e é bastante utilizada como antidiabético, antiinflamatório, ativador da circulação sangüínea, tratamento ao reumatismo, entre outros (Santos *et al.*, 2008).

Apesar de ser um gênero bastante grande, nenhuma divisão subgenérica foi proposto, apenas agrupamentos informais baseados em caracteres morfológicos foram sugeridos: Jackes (1988) classificou as espécies que ocorrem na Austrália em três grupos distintos baseado na morfologia da folha, cotilédone e sementes, enquanto que para as espécies sul americanas Lombardi (2007) indicou 15 grupos informais, baseado em uma série de características que incluem morfologia das folhas, sementes e indumento.

Estudos filogenéticos ao nível genérico foram realizados apenas em *Vitis* (Tröndle *et al.*, 2010), *Ampelopsis* (Nie *et al.*, 2012) e *Parthenocissus* (Nie *et al.*, 2010). Nenhum estudo nesse nível foi realizado para *Cissus*, apenas maior enfoque foi dado ao gênero no estudo filogenético das espécies de Vitaceae que ocorrem na Austrália. Para conhecer a provável complexa história evolutiva de *Cissus* são essenciais os estudos das espécies da América do Sul, tendo em vista que o subcontinente é um dos locais de maior diversidade de *Cissus* e a não monofilia do gênero foi evidenciada em estudos anterior por espécies que ali ocorrem.



Figura 1. Algumas espécies de *Cissus*. (A) *Cissus campestris*, (B) *Cissus decidua*, (C) *Cissus erosa*, (D) *Cissus tinctoria*. (cortesia de Julio Antonio Lombardi)



Figura 2. Algumas espécies de Cissus. (A) *Cissus verticillata*, (B) *Cissus simsiana*, (C) *Cissus stipulata*, (D) *Cissus striata*. (cortesia de Julio Antonio Lombardi)



Figura 3. Algumas espécies de *Cissus*. (A) *Cissus gongylodes*, (B) *Cissus spinosa*, (C) *Cissus paraensis*, (D) *Cissus verticillata*. (cortesia de Julio Antonio Lombardi)

4) Objetivos

4.1. Gerais

Inferir uma filogenia para as espécies de *Cissus* baseada em marcadores moleculares, com ênfase nas espécies da América do Sul e contribuir para o conhecimento da história biogeográfica do gênero.

4.2. Específicos

- a) Reconstruir a filogenia do gênero com base em sequencias de DNA;
- b) contribuir para o esclarecimento das relações filogenéticas entre as espécies do gênero Cissus:
- c) Comparar os agrupamentos das espécies da América do Sul, baseados em caracteres morfológicos, com os agrupamentos obtidos pelos dados moleculares;
- d) sugerir padrões biogeográficos para as espécies que compõem o gênero.

A seguir serão apresentados os resultados da dissertação na forma de artigo a ser submetido ao periódico Annals of Botany, com um estudo detalhado das relações filogenéticas do gênero *Cissus* com ênfase nas espécies neotropicais. A seguir, serão apresentadas as conclusões do trabalho desenvolvido.